

In the name of Allah, the Most Gracious, the Most Merciful



Copyright disclaimer

"La faculté" is a website that collects copyrights-free medical documents for non-lucrative use.

Some articles are subject to the author's copyrights.

Our team does not own copyrights for some content we publish.

"La faculté" team tries to get a permission to publish any content; however, we are not able to contact all the authors.

If you are the author or copyrights owner of any kind of content on our website, please contact us on: facadm16@gmail.com

All users must know that "La faculté" team cannot be responsible anyway of any violation of the authors' copyrights.

Any lucrative use without permission of the copyrights' owner may expose the user to legal follow-up.



FACULTE DE MEDECINE D'ALGER

1^{ère} ANNEE MEDECINE

La Réplication d'ADN

Enseignante : Dr OUABBOU. Z

Année universitaire : 2016/2017



LA REPLICATION DE L'ADN

Introduction

I- Définition

II- Rappel sur le cycle cellulaire

III- Les caractéristiques générales

III-1- Le matériel nécessaire

III-2- La méthode

IV-Processus de réplication chez les procaryotes

IV-1-Initiation

IV-2- Elongation

IV-3- Terminaison

IV-4-Régulation

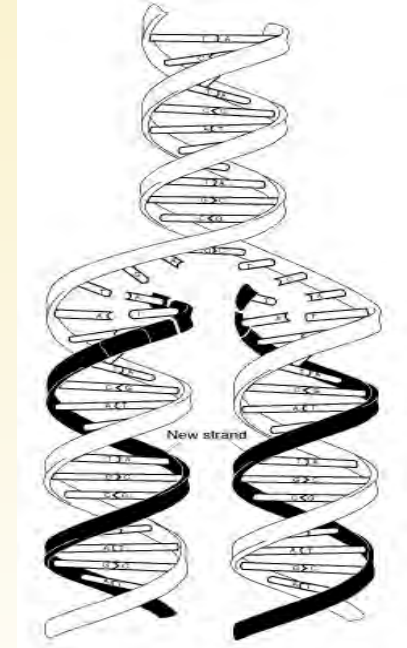
V-Processus de réplication chez les eucaryotes

VI-Differences entre la réplication chez les eucaryotes et les procaryotes


VII- Les télomères et télomérases

VIII- La réplication du matériel génétique des rétrovirus

Conclusion

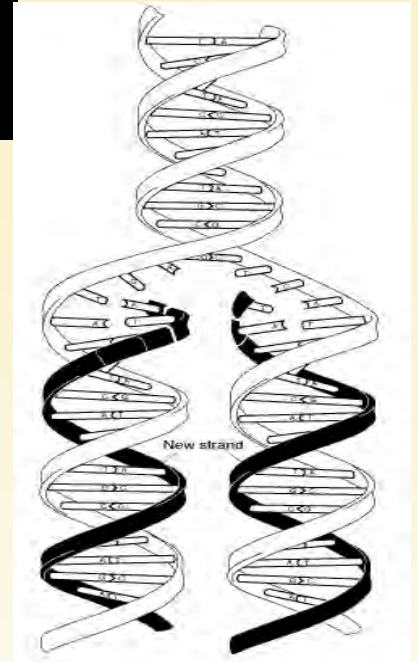


Introduction

- 
- **L'ADN est une macromolécule porteuse de l'information génétique .**
 - **La conservation du génotype exige que l'ADN se reproduise à l'identique lors de la réplication qui se déroule à la phase S de l'interphase .**
 - **La réplication est le processus au cours duquel l'ADN est dupliqué et synthétisé grâce à l'ADN polymérase.**
 - **Tous les organismes doivent dupliquer leur ADN avec une grande précision avant chaque division cellulaire . ce qui permet à l'information d' être**
 - **précision , tout en repiquant l'ADN à vitesse prodigieuse de 1000 nucléotides par secondes .**

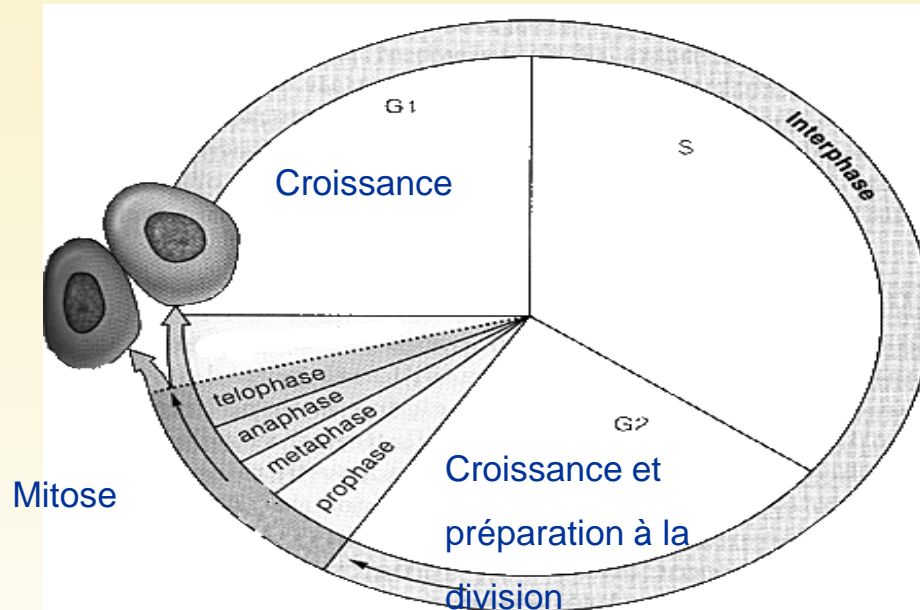
Définition

- La **réplication** est le processus par lequel l'ADN est synthétisé grâce à l'ADN polymérase.
- Ce mécanisme permet d'obtenir, à partir d'une molécule d'ADN, deux molécules identiques à la molécule initiale.
- **Réplication** : Formation de nouveaux brins d'ADN à partir des 2 brins initiaux.
 - La réplication de l'ADN doit respecter deux principes :
 - l'ensemble du génome doit être répliqué à chaque division cellulaire
 - chaque molécule d'ADN n'est répliquée qu'une seule fois par cycle cellulaire.
 - **Exception** :
 - Les **chromosomes polythènes** sont soumis à des divisions sans mitose (= endomitose) qui entraîne une accumulation de copie d'ADN dans la cellule.



1 - Rappel sur le cycle cellulaire

Le cycle cellulaire



- Le cycle cellulaire = division des cellules qui permet à un organisme d'entretenir ses tissus.
 - Cette division s'effectue selon un cycle comportant 2 grandes stades :
 - l'interphase
 - La mitose
 - L'interphase comporte 3 phases G1, S, G2.
 - La duplication de l'ADN se déroule à la phase S de l'interphase
- La durée du cycle est très variable selon le type cellulaire, et contrôlé par les facteurs de croissance.

II- Les caractéristiques générales

II-1- Le matériel nécessaire

1 Une matrice

- ADN parental , double hélice séparée en 2 brins parents .
- chacun d'eux sert de matrice pour la synthèse d'un nouveau brin d'ADN fils en spécifiant le nucléotide à ajouter .

2 Des désoxyribonucléotides (dATP,dTTP,dCTP,dGTP)

- Les désoxyribonucléotides (dNTP) apportent à la fois:
 - Le substrat : nucléoside monophosphate
 - L'énergie : pour la synthèse de la liaison internucléotidique (la réaction est rendue irréversible par l'hydrolyse de pyrophosphate = ppi par une pyrrophosphataser)



3 Une amorce

- Courte séquence d'ARN (procaryote) ou d'ARN-ADN (eucaryote) complémentaire d'un début d'une matrice .
- Servant comme accépteur de d NMP incorporé dans le nouveau brin.
- NB: Les ADN p ne peuvent pas initier la synthèse d'une chaîne d'ADN , elle peuvent seulement initier une chaîne préexistante .

4 Ions Mg^{2+}

5 Des acteurs de réplication = les outils de réplication

(Voir tableau)

Protéines impliquées dans la réplication de l'ADN

Protéine = enzymes	fonctions
1- Protéine de reconnaissance d'origine de réplication: DnaA=procaryote -AntigèneT=eucaryotes	- Reconnaissance de l'origine de réplication
2- ADN Hélicase	- Rupture de liaisons hydrogènes entre les bases
3- ADN Primase	- Synthèse des amorces
4- protéine de liaison de l'ADN simple brin : - SSB =Procaryotes	- Stabilisation de l'ADN simple brin
5- ADN polymérases	- Allongement des amorces ARN - Activité exonucléasique - Digestion des amorces - Remplacement des amorces ARN/ADN
6-ADN ligase	- Ligature des fragments d'ADN en formant des liaison phosphodiesters.
7- ADN gyrase = Topoisomérases	- Atténue les contraintes de torsion produites par le déroulement d'ADN .
8- Le clamp	- Permet la fixation d'ADN p
9- Les protéines de reconnaissance des sites de terminaison	- Reconnaissance des site de terminaison

II-2- La méthode

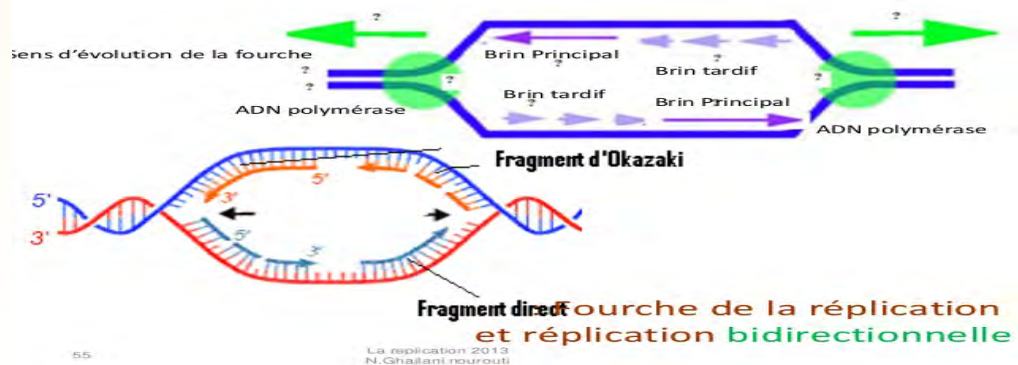
1 La réplication de l'ADN commence en un ou plusieurs site (s) appelé(s) **origine(s) de réplication "Ori"** :

- Une seule origine chez les procaryotes
- Plusieurs origines chez les eucaryotes

2 Polymérisation unidirectionnelle : Se fait dans le sens **5' → 3'**
Chaque nouveau nucléotide étant ajouté à l'**extrémité 3' OH** du brin en cours de synthèse .

3 Réplication bidirectionnelle

A chaque origine de réplication, il y a formation d'un œil de réplication qui s'agrandit tout le long de l'avancement au niveau des fourches de réplication. Il y a ainsi deux systèmes de réplication qui évoluent en sens opposés. On dit que la réplication est **bidirectionnelle**.

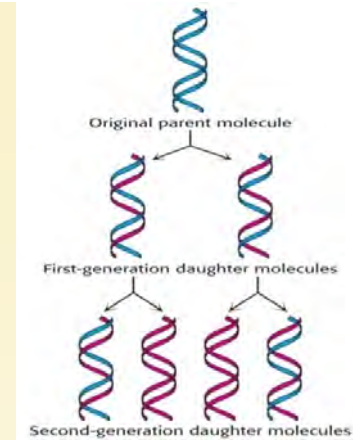


4

Réplication semiconservative

réplication est semiconservatrice se fait par copie de l'ADN matriciel.

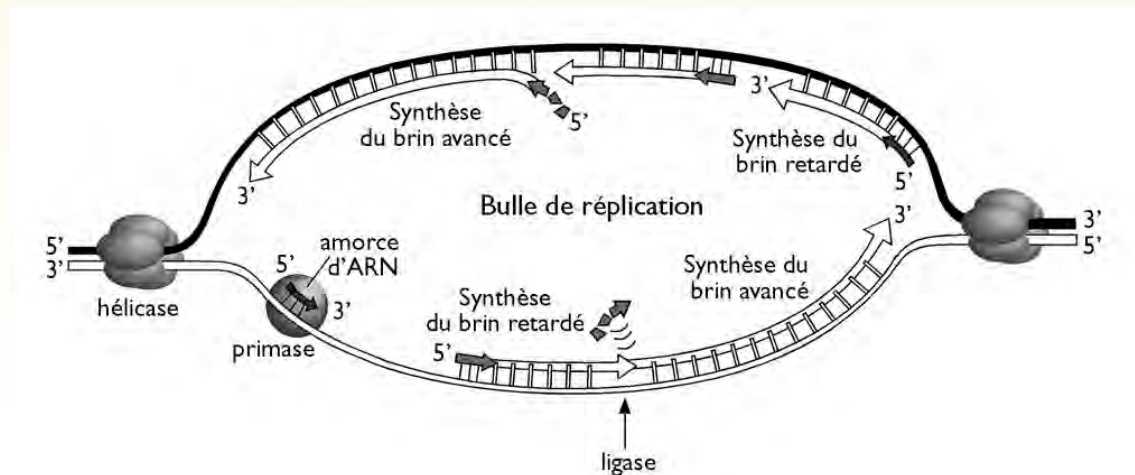
- Chaque molécule d'ADN initialement présente se séparera en deux brins d'ADN qui serviront de matrice aux brins néo-synthétisés.



5

Réplication semi-discontinue

- la synthèse de l'ADN se fait toujours dans le sens 5' vers 3', ceci nécessite donc la présence d'un **brin précoce** = primaire = avancé qui est le brin lu dans le sens de la fourche et d'un **brin tardif** = secondaire = retardé qui est le brin lu dans le sens inverse de la fourche et qui est dit **brin discontinu**.





6 Le nouveau brin est toujours synthétisé :

- Dans le sens 5' vers 3'
- De façon complémentaire (A/T, C/G)
- De façon antiparallèle : le brin matrice est lu dans le sens 3' vers 5'

7 La réplication est fidèle : Grace à l'activité correctrice de l'AND p

8 La réplication se déroule en 3 grandes étapes :

- Initiation
- Elongation
- Terminaison

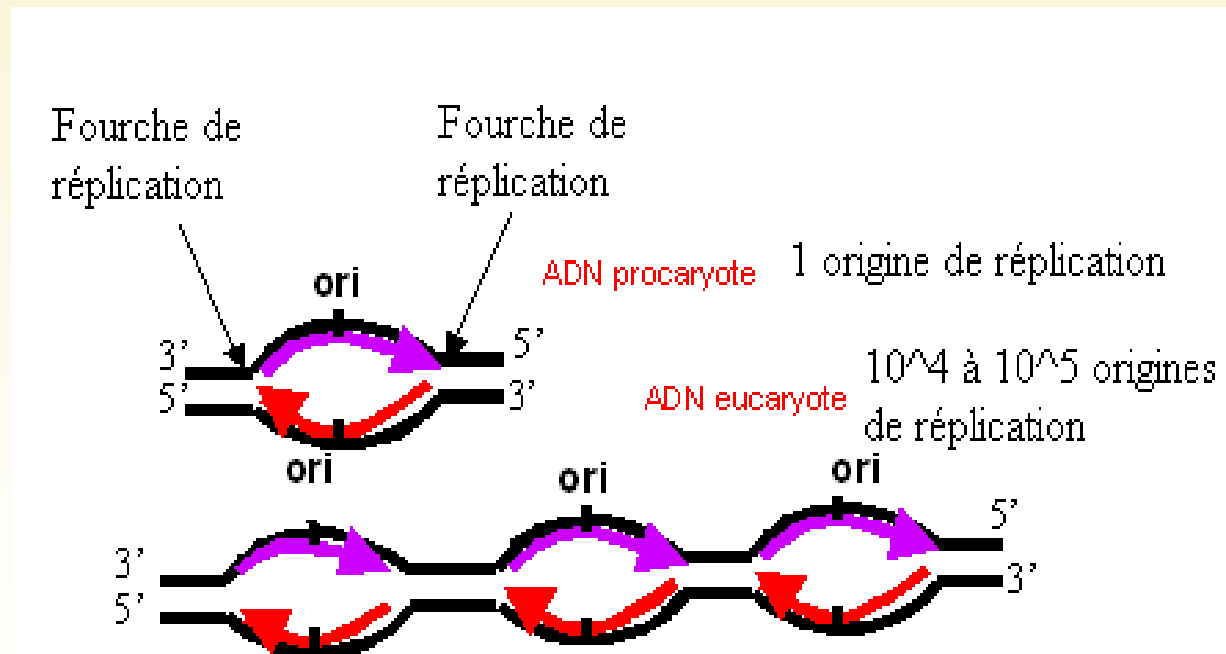


II- Les mécanismes de réplication **chez les procaryotes**

- **Initiation**
- **Élongation**
- **Terminaison**
- **Régulation**

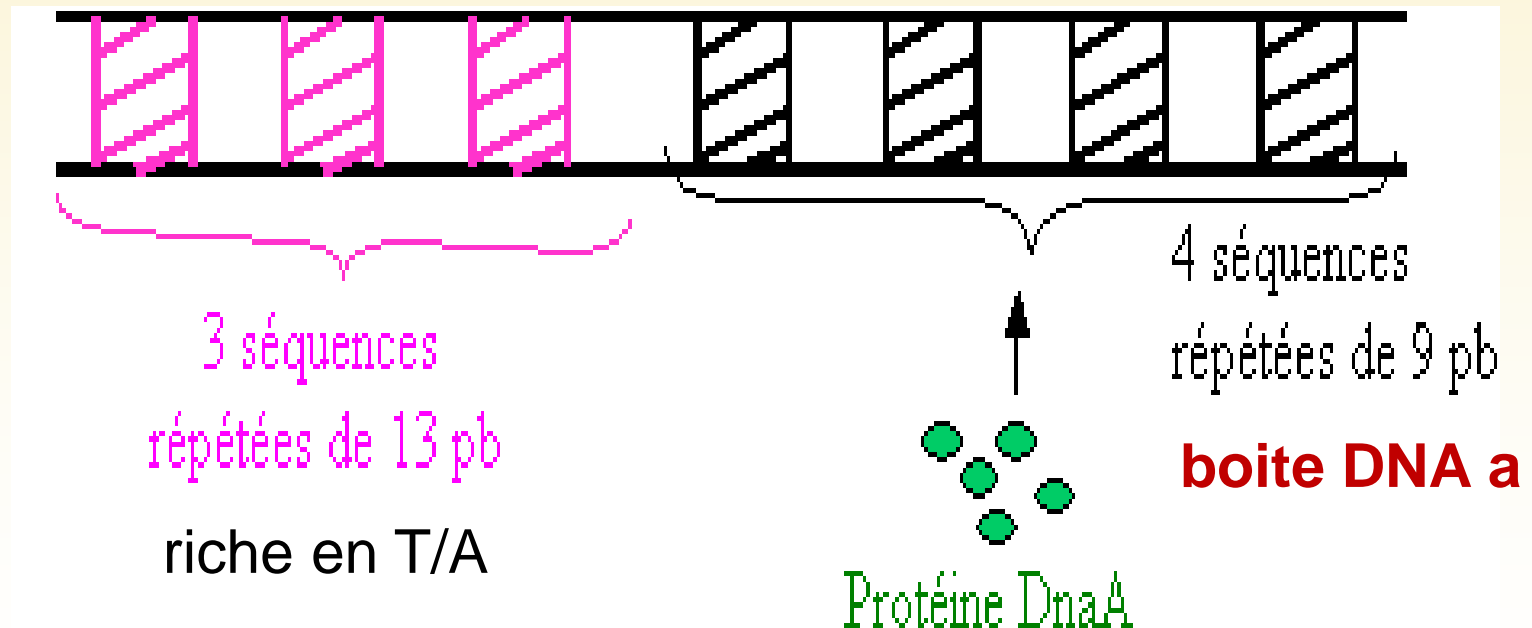
1- Initiation

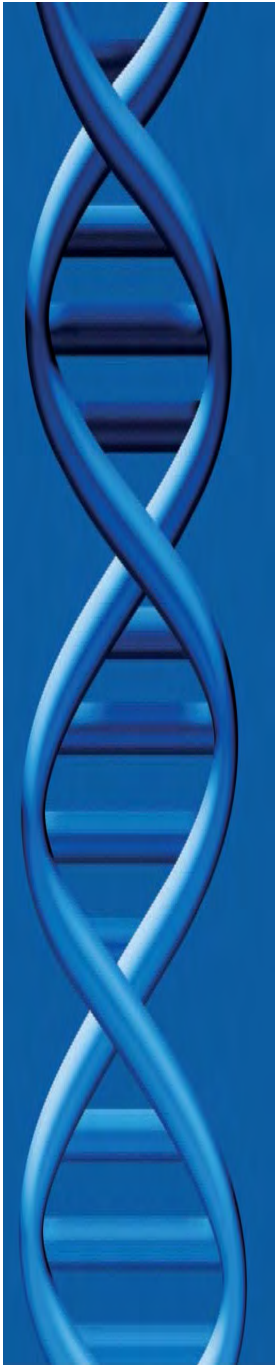
- Unique origine de réplication
- Chez E Coli \longrightarrow Ori C



La disposition générale des séquences conservées au niveau de l'OriC du ch E.coli

Le locus OriC fait 245 paires pb





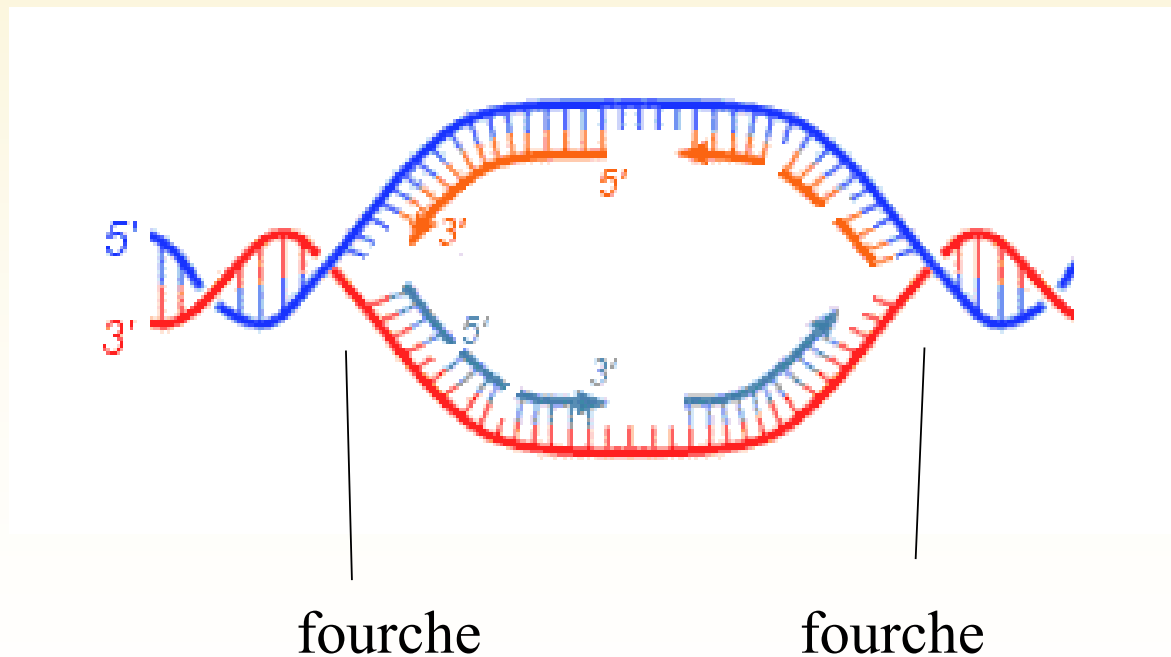
➤ Initiation se déroule comme suit :

- Reconnaissance de l'origine de réplication:

Plusieurs protéines dnaA vont s'associer avec l'ADN à l'origine de réplication et vont initier la réplication en dissociant les brins. Cette étape consomme de l'ATP.

- Ouverture de la chaîne par les hélicases (DNAB) pour ouvrir une **bulle de réplication**
- Fixation des protéines SSB sur ADN simple brin prévenir leurs réassociation Elle se dissocie facilement pour laisser passer la polymérase.

- Les endroits où l'hélice est déroulée et où les nouveaux brins se développent s'appellent les ***fourches de réplication***. Il y a une fourche de réplication à chaque côté d'une bulle de réplication.

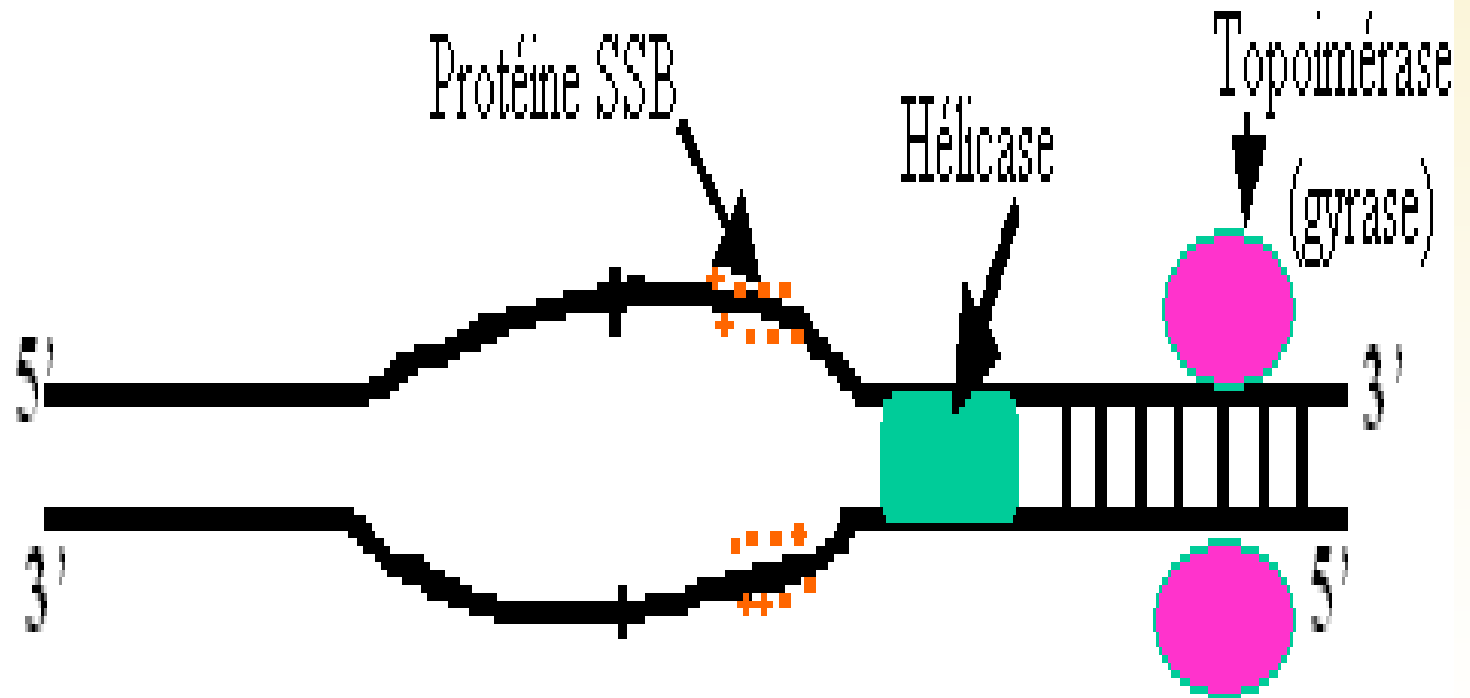




➤ Initiation se déroule comme suit :

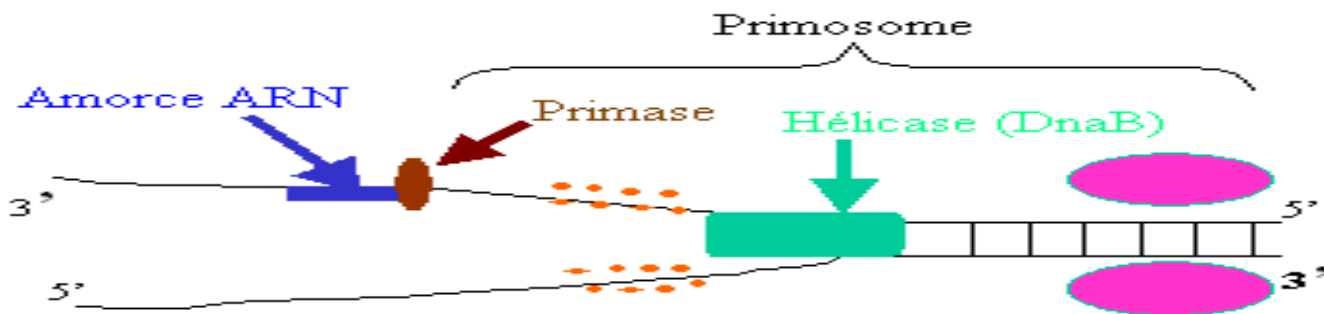
- Le déroulement de l'ADN est également assuré par une topoisomérase, l'ADN Gyrase qui introduit des supertours négatifs.
- NB: Les topoisomérases : Permettent de désenlacer l'ADN. Les topoisomérases sont des enzymes qui modifient le nombre d'enlacements. Elles sont capables d'introduire ou d'éliminer des supertours au sein de la molécule d'ADN.

➤ Initiation se déroule comme suit :

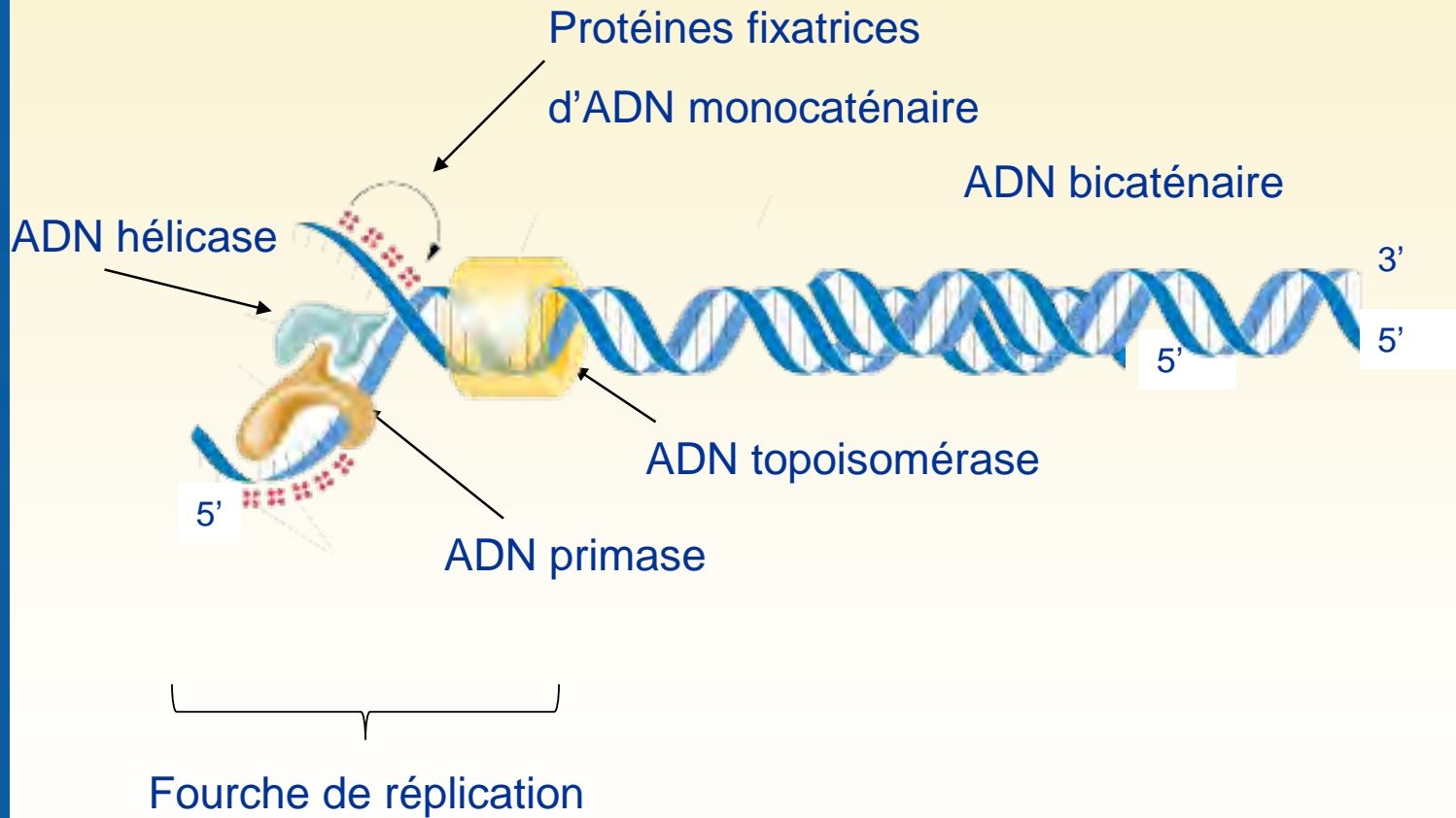


Initiation se déroule comme suit :

- Puis, il se formera rapidement un complexe appelé **primosome** entre **l'hélicase et une enzyme appelée primase** qui synthétise une amorce de 10 à 60 paires de nucléotides d'ARN avec une séquence de bases complémentaire à la matrice d'ADN.
- Dissociation de la primase du b matrice du b continu ,elle reste attachée au brin matrice du brin discontinu .



1-Initiation



2- Elongation

Le chef de file des protéines intervenant pour cette étape est **l'AND polymérase III**

a – Les ADN polymérases

- Les ADN polymérases (ou désoxynucléotidyl-transférase) sont les enzymes responsables de la polymérisation des nucléotides lors de la réplication de l'ADN.
- Les ADN polymérases procaryotes sont de 3 types (I, II et III) et les ADN polymérases eucaryotes de 5 types (α , β , δ , ϵ et γ)

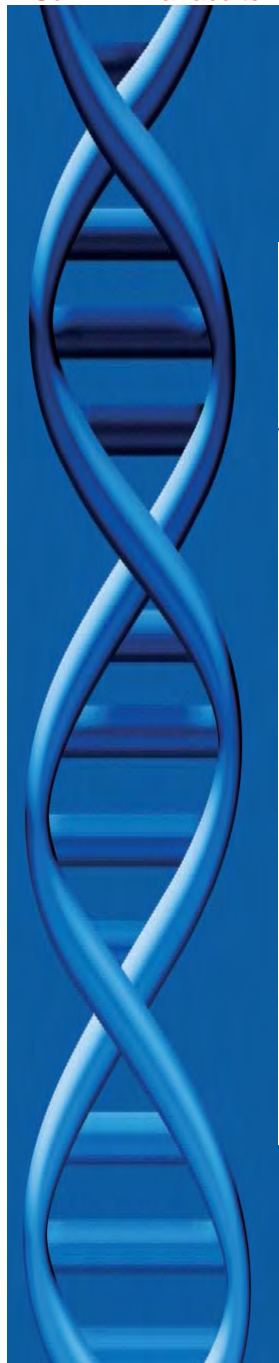
ADN polymérase I a 3 fonctions :






- une fonction de polymérisation 5' \Rightarrow 3' pour remplacement des amorces d'ARN par un brin d'ADN et le remplissage des lacunes au cours de la réparation de l'ADN.
- une fonction exonucléase 5' \Rightarrow 3' qui va éliminer les amorces d'ARN
- une fonction exonucléase 3' \rightarrow 5' qui va éliminer les nucléotides mal appariés et prodes nucléotides corrects. Ainsi cela réduit la fréquence des erreurs à 1 par million. (= fonction d'édition).

ADN polymérase II : n'est pas encore bien éclairci, mais pourrait intervenir dans la réparation de l'ADN lésée chimiquement.

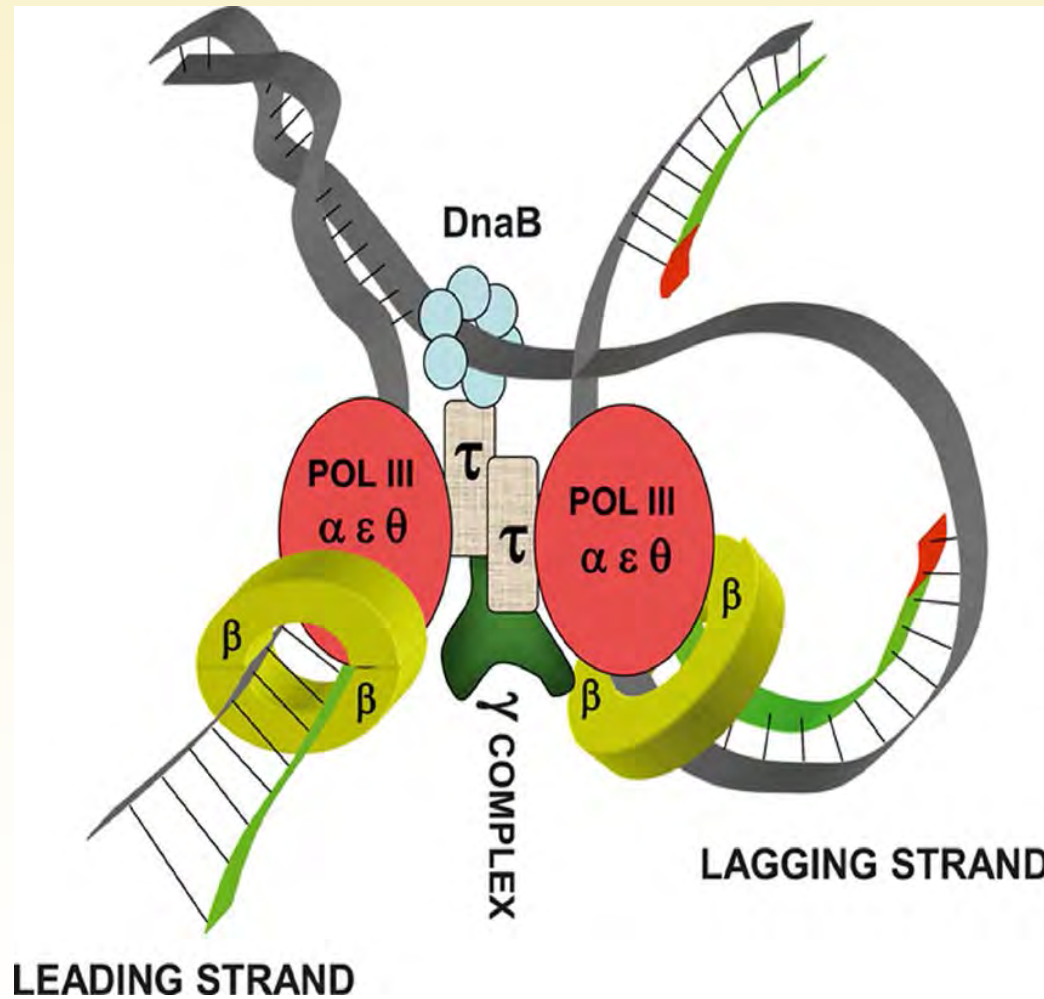
ADN polymérase III possède 2 fonctions :

- une fonction polymérase d'addition de nucléotides à l'extrémité 3'OH d'une chaîne nucléotidique. C'est cette enzyme qui fonctionne aux fourches de réplication.
- une fonction exonucléase 3' \rightarrow 5' comme pour la polymérase d'ADN (ou ADN polymérase) I, ces enzymes sont douées d'une « fonction d'édition ».

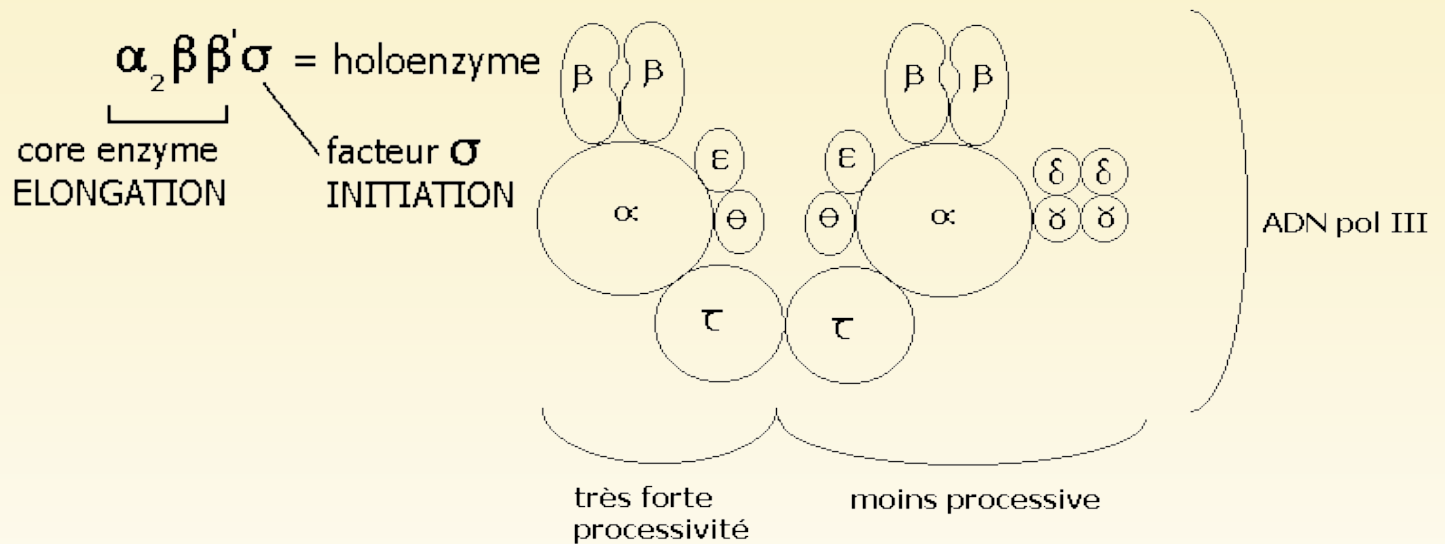


	Pol I	Pol II	Pol III	Pol IV	Pol V
DNA polymerase family	A	B	C	Y	Y
Activity	5'-3' polymerase 3'-5' exonuclease 5'-3' exonuclease	5'-3' polymerase 3'-5' exonuclease	5'-3' polymerase 3'-5' exonuclease	5'-3' polymerase	5'-3' polymerase
					
Number of molecules/cell					
– SOS	400	50 - 75	10 - 20	150 - 250	< 15
+ SOS	400	350 - 1000	10 - 20	1200 - 2500	200
Biological functions in the cell	DNA replication, Okazaki fragment maturation, DNA repair	DNA replication (backup DNA polymerase), DNA repair, TLS	DNA replication DNA repair	TLS	TLS

➤ Structure de l'AND p III



➤ Structure de l'AND p III



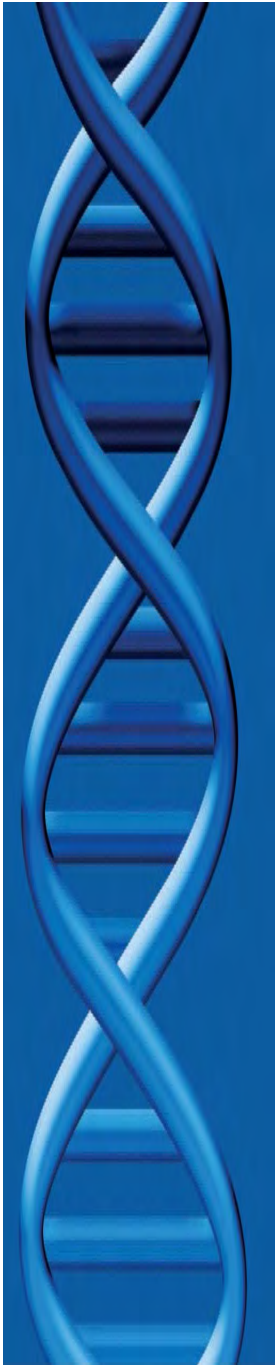
▪ holoenzyme.

▪ Dimère asymétrique constituée de 10 polypeptides (en fait 2*5):

• 3 pour le noyau (core) de l'enzyme:

- alpha : polymérase
- epsilon exonucléase 3'→5'
- psi : activité inconnue

• 2 béta se fixent au core de façon à lier fortement le core à l'amorce et au modèle.



➤ **Les ADN polymérases nécessitent un certain nombre de conditions d'activités :**

- 1- Les 4 désoxy-ribo-nucléotides 5' tri-phosphate (dATP, dTTP, dCTP et dGTP) en quantité équimolaire.
- 2- Des ions magnésiums (Mg^{2+}) qui stabilisent l'ADN et les protéines.
- 3- Une matrice d'ADN (mono ou bicaténaire).
- 4- Une amorce d'ADN ou d'ARN ayant une extrémité 3'OH libre.

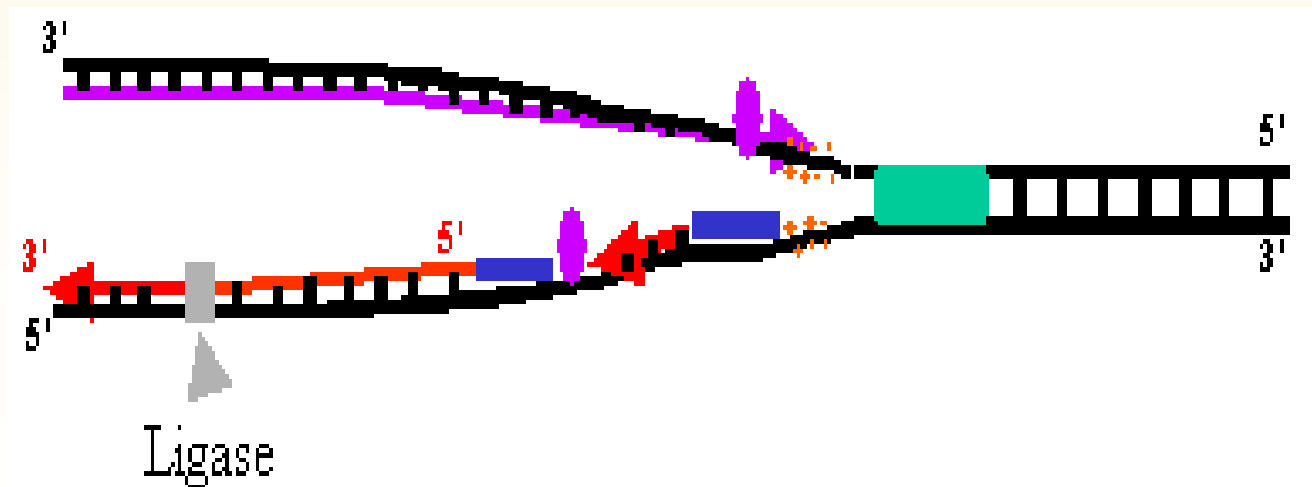


➤ Activités des ADN polymérases :catalyse

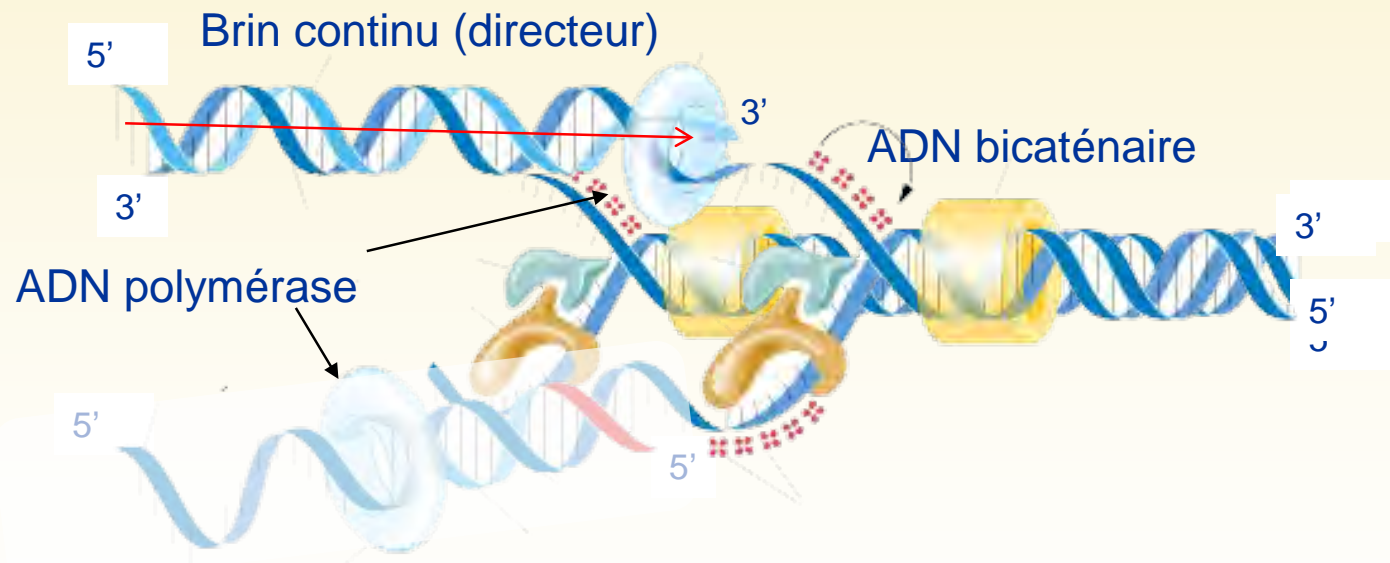
- Les ADN polymérases ont des activités bien spécifiques :
 - 1- Une **activité polymérasique 5' vers 3'** qui est leur activité principale.
 - 2- **Une activité exo-nucléasique** qui correspond à la dégradation d'une des extrémités du brin néo-synthétisé de l'ADN lors de la réplication et qui peut être de 2 types :
 - De 3' vers 5', L'activité exo-nucléasique 3' vers 5' de l'extrémité 3'OH permet le **proofreading**, qui correspond à la correction d'un mauvais appariement de base en cassant la liaison phosphodiester et en remplaçant le nucléotide mal apparié.
 - De 5' vers 3', de l'extrémité 5'phosphate, lors de la jonction des segments d'ADN synthétisé sur le brin retardé .

L'élongation se déroule comme suit

- Après synthèse de l'amorce d'ARN, chaque monomère de **l'ADN polymérase III** se fixe sur un brin matrice grâce à la S/U B (anneau coulissant) pour lui faciliter ses déplacements.



Élongation du brin d'ADN continu 5' → 3'

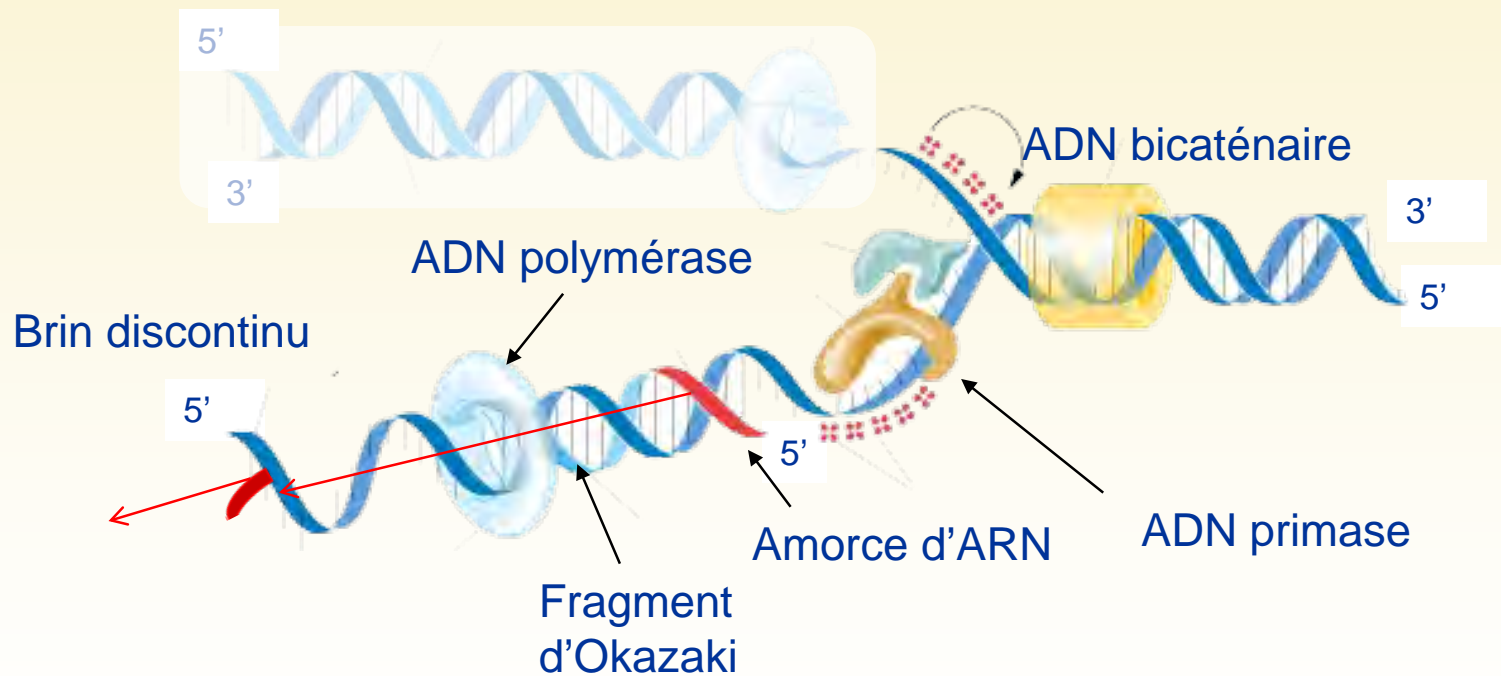


Allongement de l'amorce dans le sens 5' → 3'

Hydrolyse de 2P pour la polymérisation

Activité correctrice = fonction d'édition : Activité 3'-5' exonucléasique

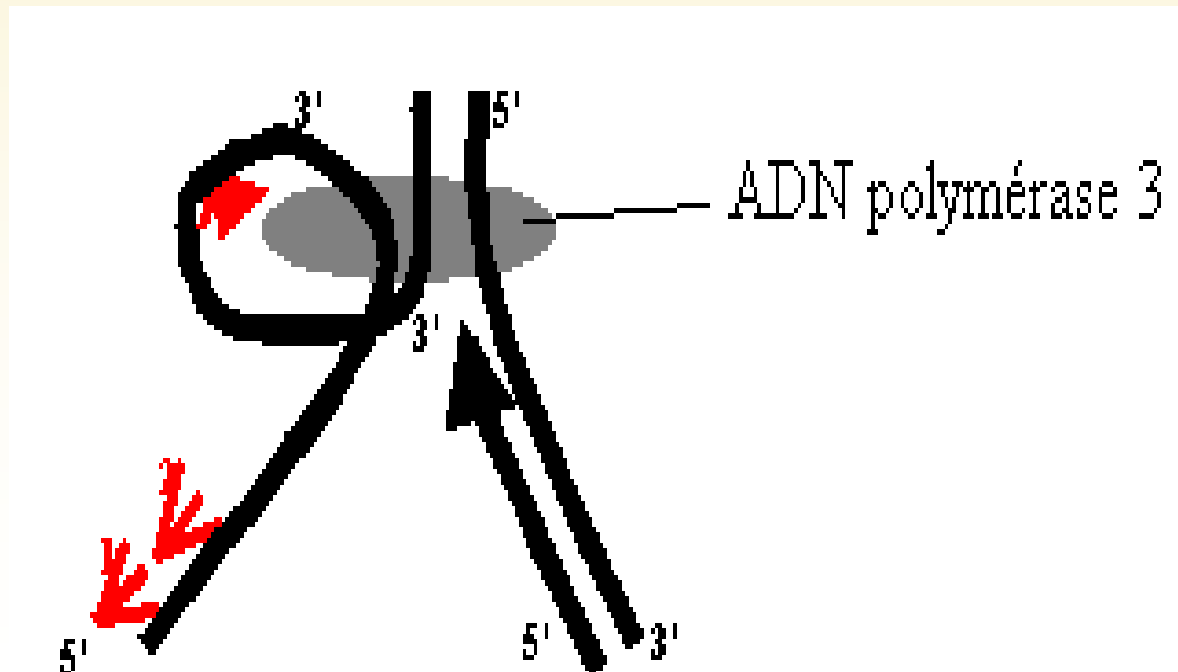
Élongation du brin d'ADN discontinu 5' → 3'

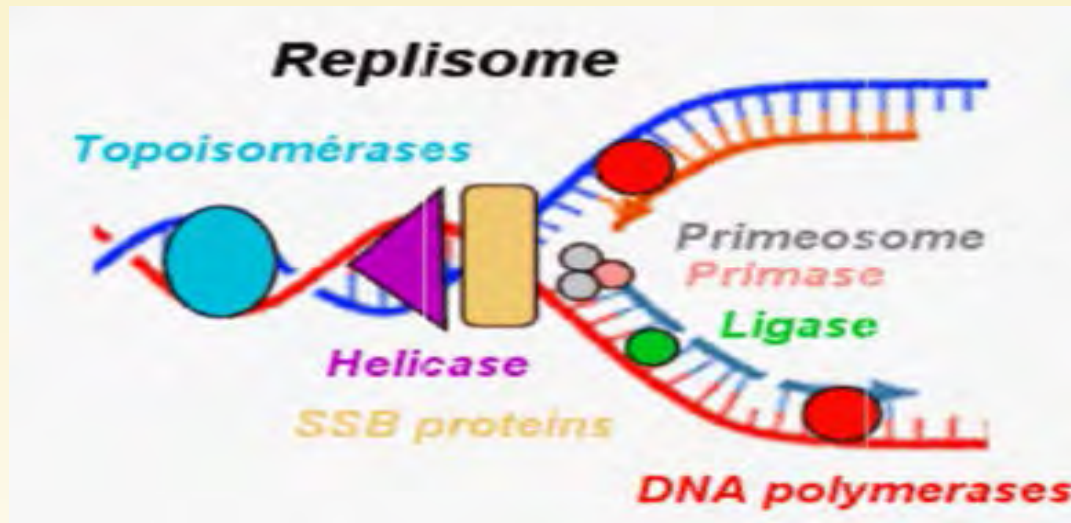


ADN polymérase agit dans le sens 5' → 3

Synthèse concertée des deux brins d'ADN

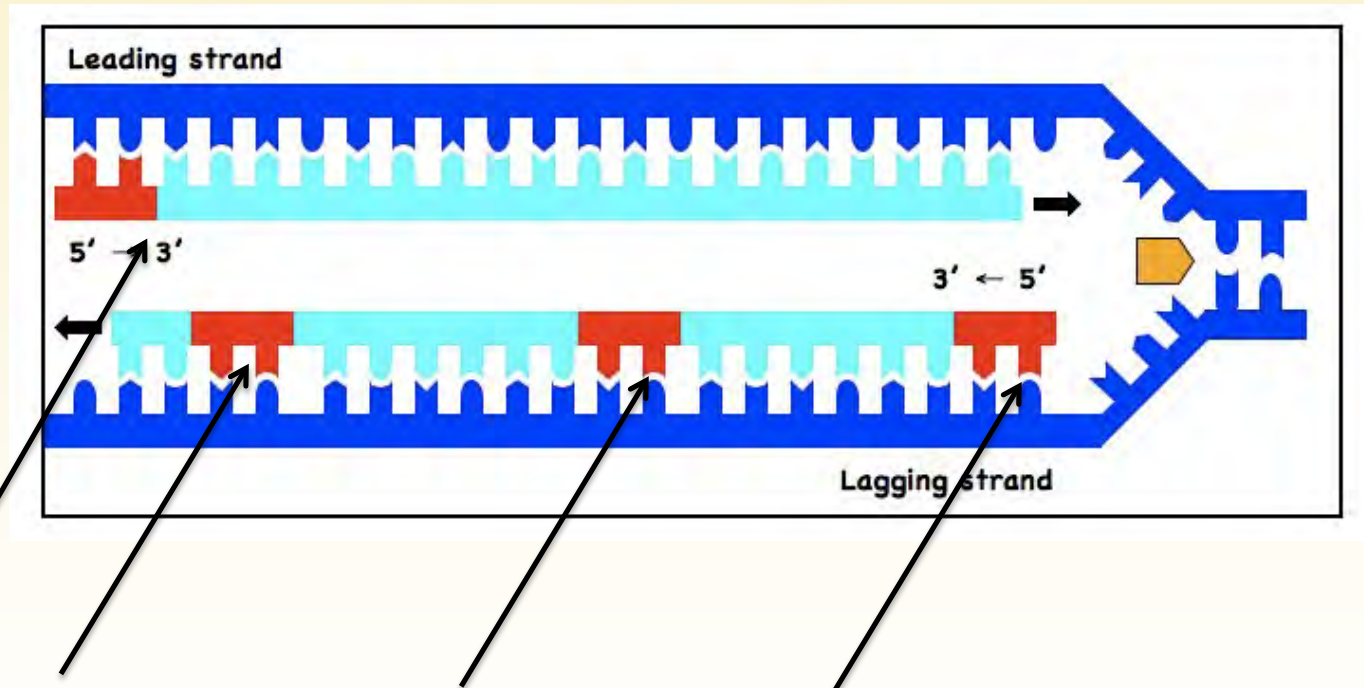
- La même ADN polymérase III ajoute des nucléotides aux points de croissance tant du brin avancé que du brin retardé de façon concertée.
- Le brin parental, matrice du brin retardé, formerait une boucle (trombone) autour de la polymérase d'ADN (ou ADN polymérase) III. Il se produirait ainsi une inversion de sens de brin retardé si bien que l'addition de nucléotides en 3' dans le sens 5' => 3' pourrait se faire simultanément sur les deux brins.





**L'ensemble primosome + AND P III
+ gyrase + d'autres protéines forme le
réplisome**

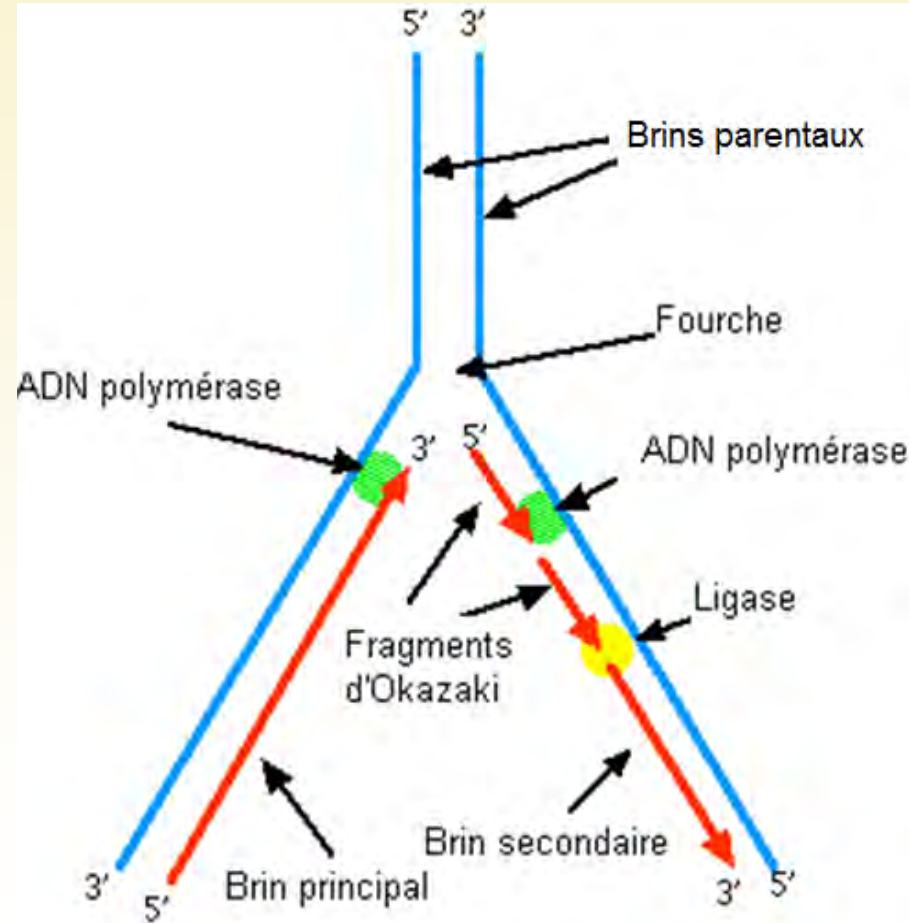
Enlèvement des amorces



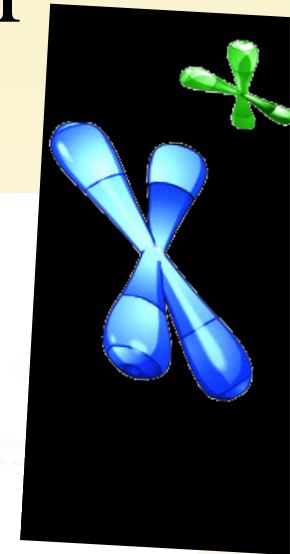
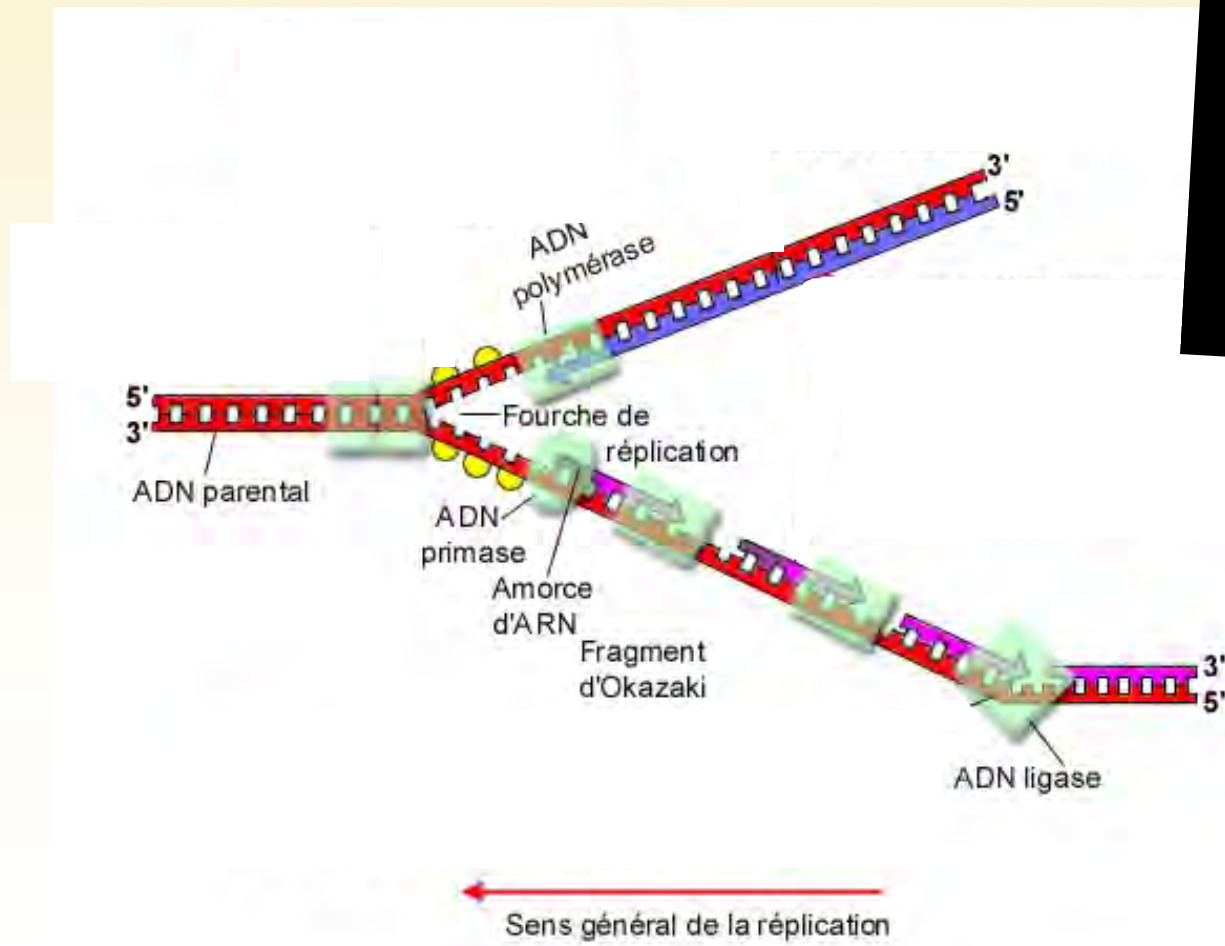
Toute les amorces d'ARN sont éliminées et remplacées par l'ADN , ces 2 fonctions sont assurées / l'ADN p I

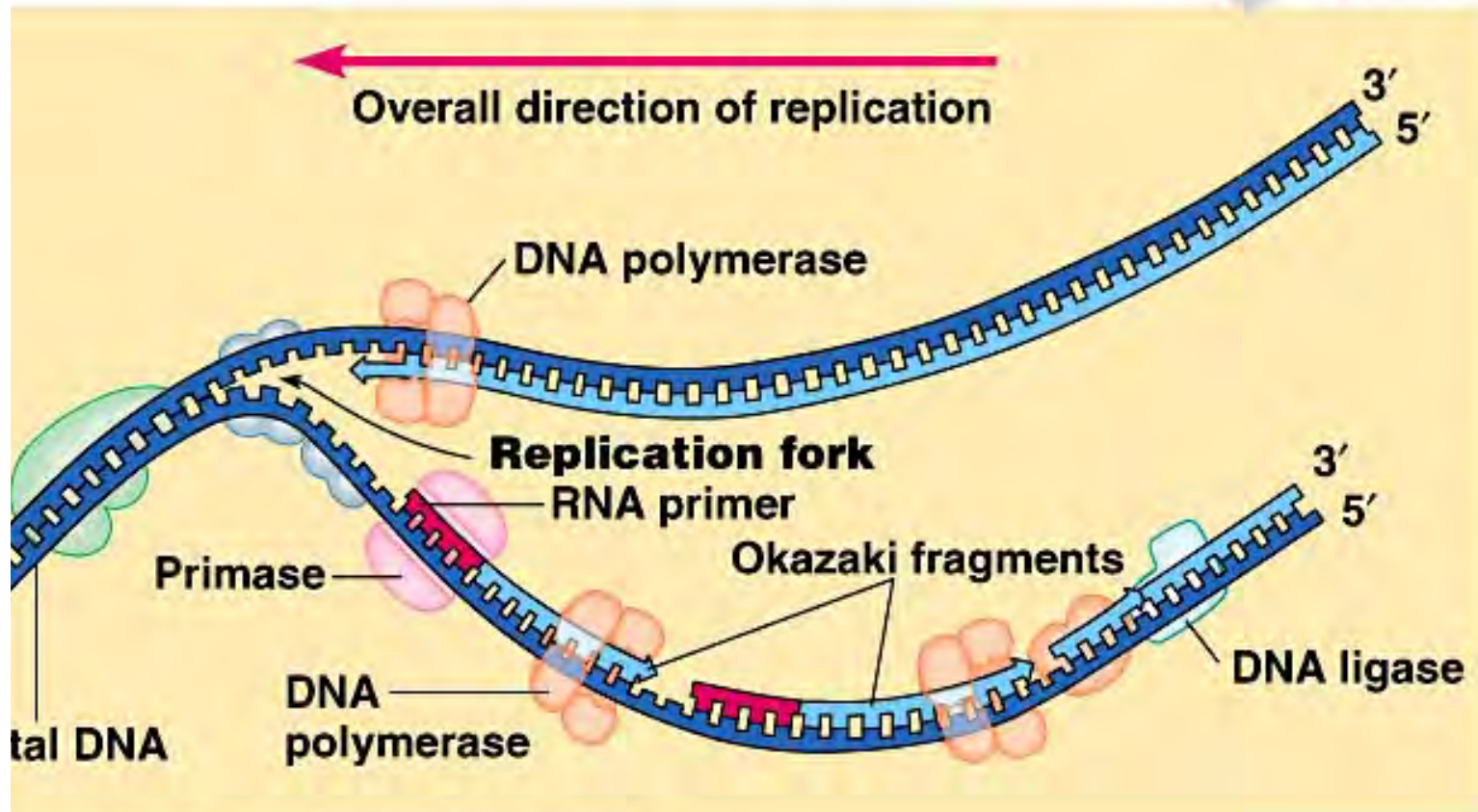
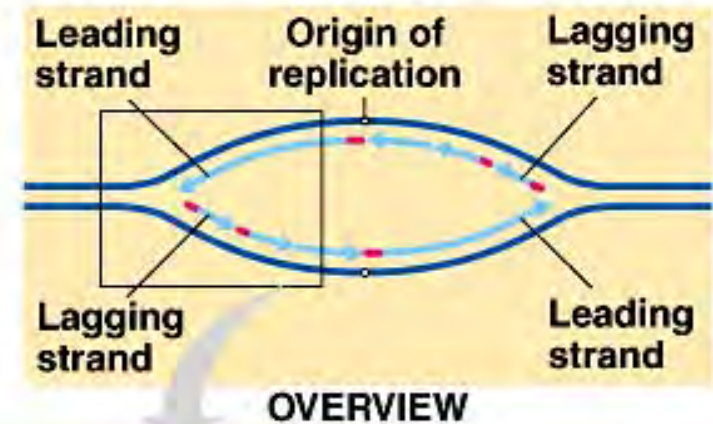
NB: La digestion des amorces peut être également réalisée par la Rnases

Finalelement, un enzyme s'appelle *ligase* vient pour lier les fragments d'Okazaki ensemble



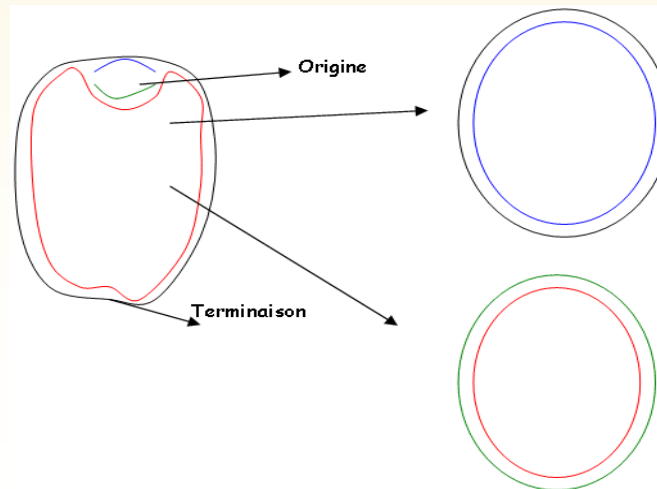
Et qu'est-ce que ça donne en continu ?



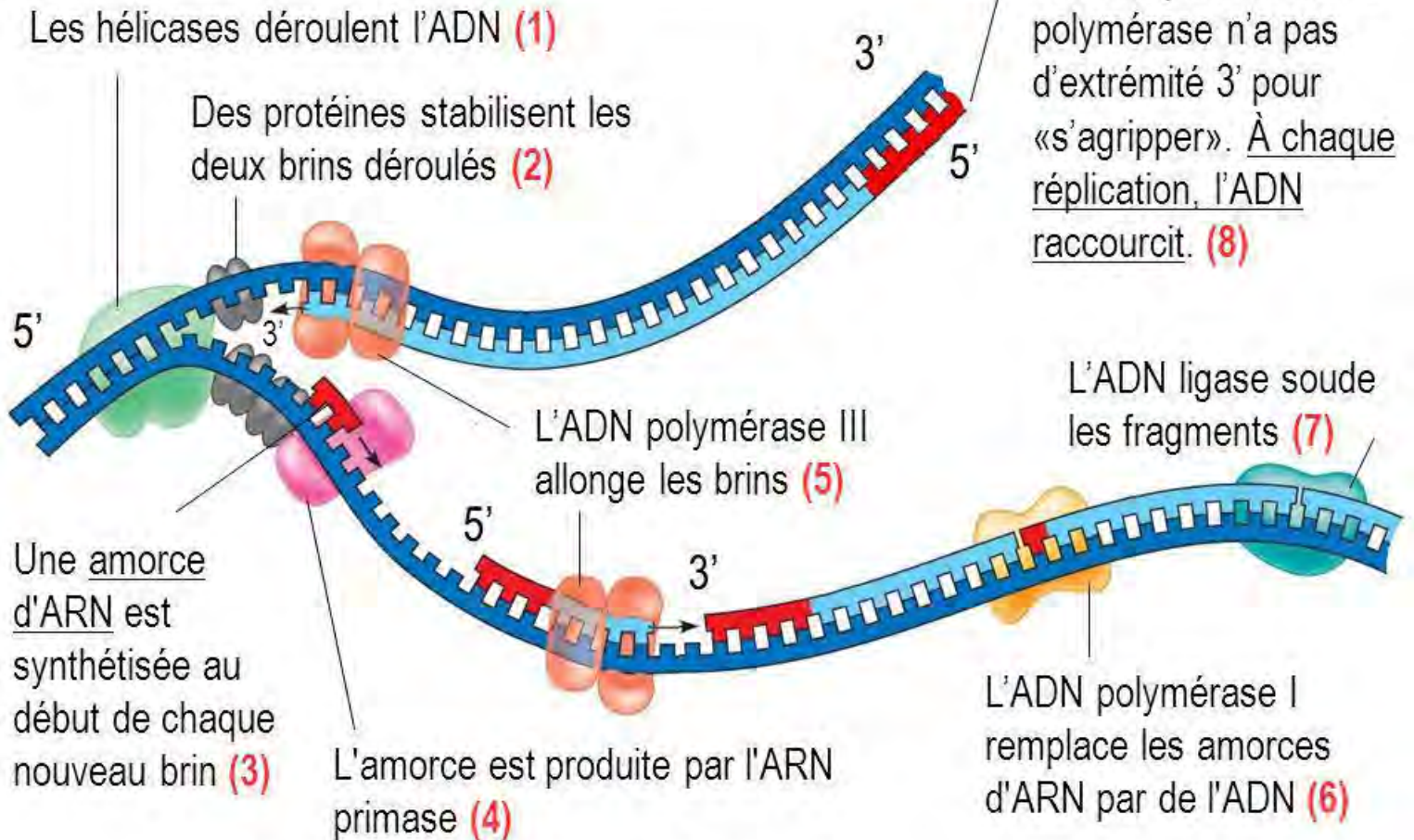


3- Terminaison

- Le terminateur est le site de fixation de protéines « Tus » qui reconnaît les régions Ter.
- Chez E-Coli, la partie entre les deux terminateurs n'est d'abord pas répliquée, les deux ADN circulaires sont ainsi associés, on utilise alors la topo-isomérase II pour les dissocier.
- L'ADN polymérase I complètera ensuite les parties non répliquées.



G) Les enzymes impliqués dans la réplication (Procaryotes)



Campbell (3^eéd.) — Figure 16.16 : 331

4) Régulation de la réplication chez E-Coli

❖ Méthylations des séquences GATC au niveau de l'origine de réplication

- L'initiation de la réplication nécessite la méthylation des séquences GATC sur les deux brins par la protéine **Dam** (pour DNA adénine méthylase).
- L'hémi-méthylation bloque la réinitiation.

❖ la Dna A : double régulation

- Sa synthèse : l'accumulation de Dna A induit l'initiation de la réplication. Le promoteur de Dna A contient aussi des séquences GATC.
- Son activité : 2 forme (active –inactive)

V- Les mécanismes de réplication chez les eucaryotes

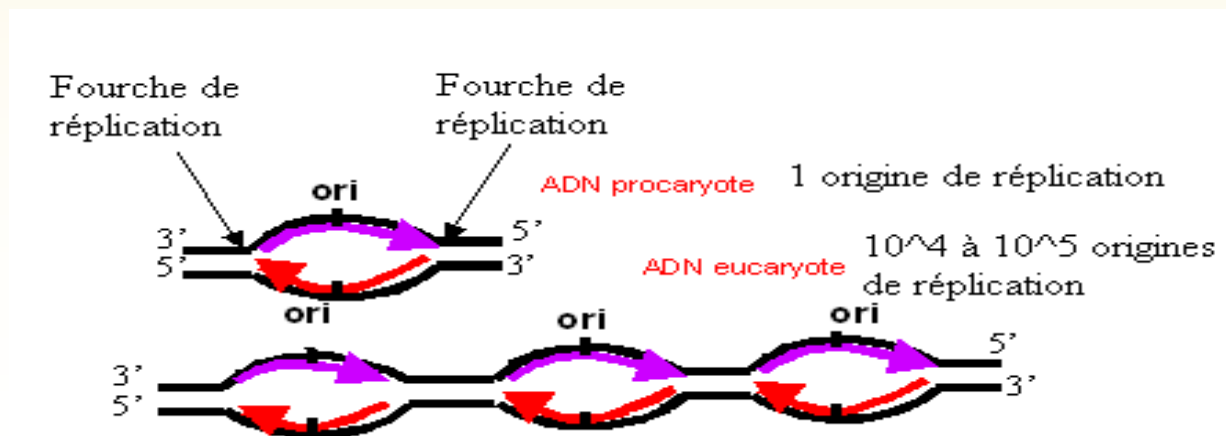
- Même principe que la réplication chez les procaryotes avec quelques différences :

- 1- Par rapport aux procaryotes la réplication est plus **rare**, car l'initiation est très contrôlée, de plus, l'ADN est sous forme de chromatine.
- 2- L'ADN est plus long , la vitesse de réplication est de 50 n/s ,ceci est compensé par **de multiples origines de réplication** .
- 3-**Duplication de la masse d'histone** ,les protéines néosynthétisées et parentales se répartisse de façon aléatoire sur chaque brin .

1-Initiation

❖ Le réplicon :

- Est l'unité de réplication de l'ADN eucaryote.
 - Il contient une origine et une terminaison .
 - Segments de taille variant de 30 000 à 150 000 bases .
-
- ❖ Compte tenu de la taille des brins d'ADN chromosomique la réplication a certainement plusieurs origines de réplication.
 - ❖ Chaque origine de réplication est appelée œil de réplication.
 - ❖ Pour un œil de réplication, on a 2 complexes multienzymatiques qui vont en sens inverse.





1-Initiation

- L'initiation se déroule comme suit:
 - 1- L'Antigène T reconnait le site d'initiation.
 - 2- Séparation de l'ADN double brin en ADN simple brin par Ag T.
 - 3- La protéine RPA se fixe sur ADN simple brin.
 - 4- L'ADN α synthétise l'amorce ARN –ADN.

2- Elongation

- Il en existe 5 ADN α : alpha, bêta, gamma ,delta, epsilon.
- Alpha delta et epsilon participent à la réplication du chromosome.
- Chez les eucaryotes les fragments d'Okazaki sont plus petit (environ 200pb).

3- Terminaison

- Quand la synthèse des 2 copies est achevée , la topoisomérase II décatène les deux chromosomes .

III- Differences entre la réplication chez les eucaryotes et les procaryotes

	P rocaryotes	Eucaryotes
Origine de réplication	unique	multiple
Protéine stabilisatrice de l'ADN simple brin	SSB	RP-A ou RF-A
Amorce ARN	oui synthétisée par une primase suivit par ADN pol III dégradé par l'ADN pol I trou bouché par l'ADN pol I	oui synthétisée par alpha suivit par alpha ou bêta ou epsilon dégradé par RNase H trou bouché par alpha ou bêta

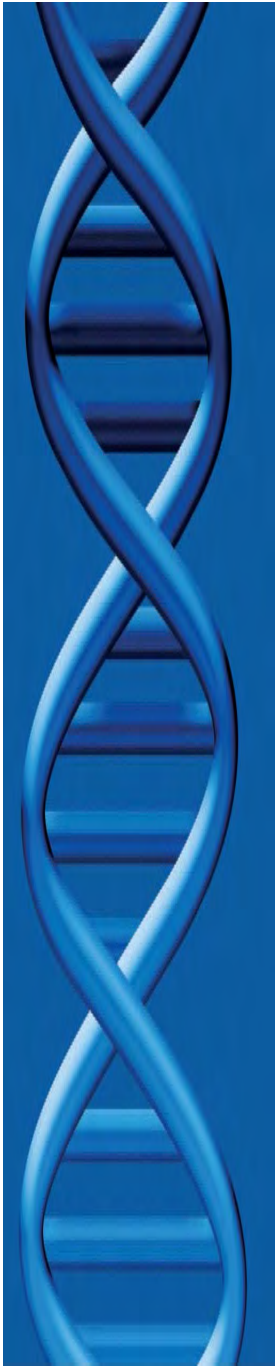
	Procaryotes	Eucaryotes
ADN polymérases	ADN pol III: 1 polymérase activité exonucléasique 3'→5' ADN pol I: activité exonucléasique 5'→3' 1 polymérase activité exonucléasique 3'→5'	alpha: 1 polymérase 2 primases pas d'activité exonucléasique 3'→5' delta: activité exonucléasique 3'→5' pas de primase epsilon: activité exonucléasique 3'→5' pas de primase béta: répare les courts fragments d'ADN gamma: réplique l'ADN mitochondrial activité exonucléasique 3'→5'
Fragments d'Okazaki	2000 nc	200 nc
ADN ligase	ADN ligase	I ,II, III

III- Les télomères et télomérases

❖ Les télomères ont différents rôles :

- maintenir l'intégrité des informations génétiques
- Protéger les ADN vis-à-vis des exo-nucléases
- Eviter les fusions des chromosomes au niveau des extrémités
- Rôle dans l'organisation de la chromatine durant l'interphase par interaction avec la membrane nucléaire.

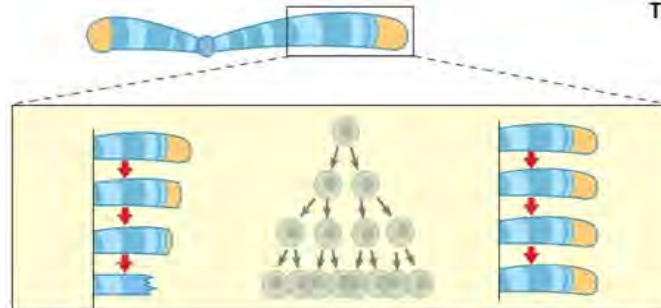
VI- Les télomères et télomérases

- 
- Les chromosomes raccourcissent à chaque division cellulaire.
 - Si l'extrémité des chromosomes était libre il y aurait perte de matériel génétique.
 - En effet lorsque le télomère disparaît, la cellule meurt par apoptose.
 - Les chromosomes présentent ainsi ce qu'on appelle des télomères dont leur taille et leur nombre de réplication (qui sont reliés l'un à l'autre) sont très important.
 - Le télomère est formé grâce à des télomérases qui sont des **ribonucléoprotéines (transcriptase réverse spécialisé)** pouvant s'associer à des séquences répétées spécifiques de l'extrémité du chromosome.
 - Les télomérases jouent le rôle de matrice pour les ADN polymérases qui synthétiseront les télomères.
 - Attention, les télomérases ne sont pas actives dans les cellules différenciées ,somatique) = Sénescence c réplicative =extinction de l'individu !!!!
 - Elle sont active uniquement au niveau des cellules germinales

III- Les télomères et télomérases

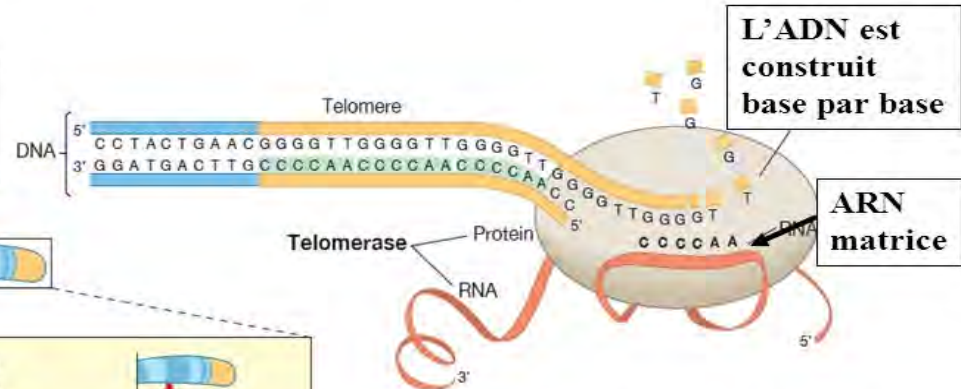
L'un des brins de l'ADN s'allonge en synthétisant une séquence GGGGT
complémentaire de l'ARN de la télomérase, puis l'autre brin s'allonge
en synthétisant la séquence complémentaire CCCCA.

La télomérase
« fabrique »
les télomères



Sans télomérase, le chromosome raccourcit à chaque division cellulaire, jusqu'à ce que le télomère disparaisse, alors c'est le chromosome lui-même qui est altéré.

La télomérase maintient les télomères aux extrémités de l'ADN. Ceci permet aux chromosomes d'être intégralement dupliqués à chaque division cellulaire



L'ADN est
construit
base par base

ARN
matrice

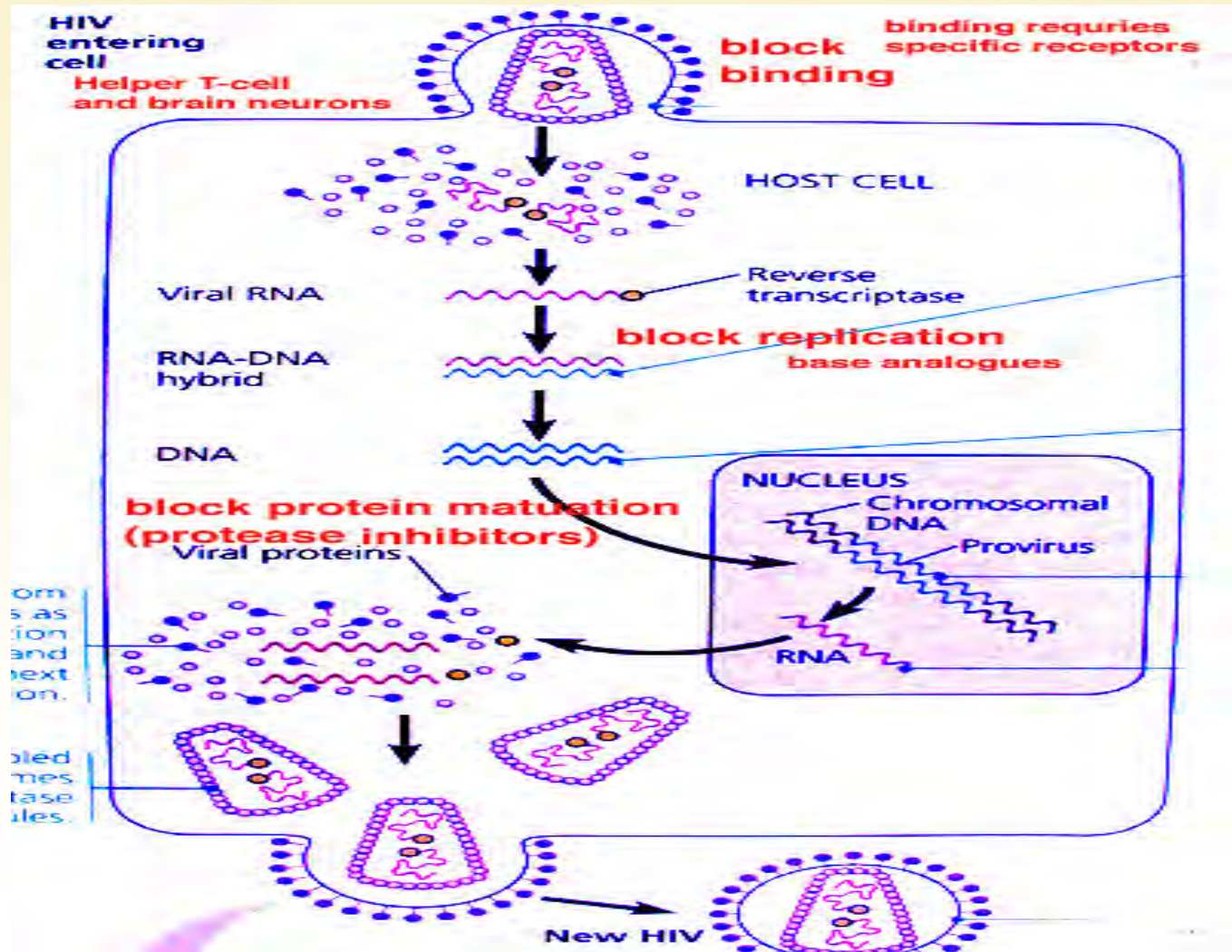
La télomérase agit aux extrémités des chromosomes. C'est une enzyme faite d'un ARN associé à une protéine. L'ARN est une matrice qui guide la synthèse de l'ADN

© The Nobel Committee for Physiology or Medicine 2009
Illustration: Annika Röhl

VII) La réplication du matériel génétique des rétrovirus

- Les rétrovirus sont des virus à ARN monocaténaire dont le génome passe au cours du cycle viral, par une intégration sous la forme d'ADN, dans le génome de la cellule hôte.
- Le plus connu de ces rétrovirus est virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ou **virus du SIDA**.
- La réplication du matériel génétique des rétrovirus permet ainsi le passage d'une ARN simple brin à un ADN double brin et ceci grâce à 3 principales enzymes :
 - 1- Une **ADN polymérase ARN dépendante**, qui n'est autre que la **transcriptase inverse** responsable de la transcription reverse de l'ARN virale. Elle a la caractéristique de synthétiser dans la direction 5' vers 3', et nécessite une amorce, une matrice, ainsi que les désoxyribonucléosides triphosphate ; elle ne présente par contre pas d'activité exonucléasique 3' vers 5'.
 - 2- Une **RNase** responsable de la lyse de l'ARN virale.
 - 3- Une **ADN polymérase ADN dépendante** responsable de la formation de l'ADN double brin qui sera intégré dans le génome de la cellule hôte.

IV) La réplication du matériel génétique des rétrovirus



CONCLUSION

- La réplication de l'AND est le processus par lequel l'information génétique passe à travers les génération de cellules
- Ce processus a lieu au cours de la phase S du cycle cellulaire , et faisant intervenir une cascade de protéines , qui agissent en collaboration pour assurer la réussite de l'opération , et sa bonne régulation.

F
I
N

